

氏 名	柏崎 隼
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	第 5307 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文名	Novel regulation mechanisms of membrane traffic in fission yeast (分裂酵母における新たな膜ダイナミズム制御機構の発見と解析)
論文審査委員	主 査 教 授 宮田 真人 副 査 教 授 保尊 隆享 副 査 准教授 中村 太郎

論 文 内 容 の 要 旨

真核生物の細胞内には様々なオルガネラが存在し、様々な方法で物質のやりとりを行っている。中でも膜を介した物質の輸送は最も興味深い生命現象の一つであり、医療、創薬などの分野においても非常に重要な研究分野である。私は分裂酵母を用い、膜輸送、特にエンドサイトーシス経路に関わるいくつかの新たな制御機構を発見し、解析を行った。

分裂酵母は 2 分裂によって増殖するが、栄養源が枯渇すると接合・減数分裂を経て 4 つの胞子をつくる。胞子形成における最も重要な過程は前胞子膜（将来の細胞膜）の形成である。前胞子膜の形成に必須のタンパク質としてシンタキシン 1 のオルソログ **Psy1** が知られている。**Psy1** は膜小胞の標的として細胞膜上に存在し膜融合を促進するが、胞子形成時には前胞子膜へと局在を劇的に変化させる。これにより小胞体、ゴルジ体からの小胞輸送方向が変化し、前胞子膜の形成を促進すると考えられている。私はこの **Psy1** の局在変化のメカニズム解明を目指した。分子生物学・蛍光顕微鏡技術を駆使し、**Psy1** が細胞膜から前胞子膜へ確かに移動していること、**Psy1** がエンドサイトーシスで取り込まれること、その後エンドソームを経て前胞子膜へ送られることなどを明らかにした。本来標的としてはたらくシンタキシンがエンドサイトーシスされるという報告はこれまでなく、エンドサイトーシスが小胞輸送方向の制御に関与するという興味深い知見が得られた。またこの減数分裂時のエンドサイトーシスは栄養増殖の時のものと異なる性質を有していた。

液胞はエンドサイトーシス経路の終着点であり、細胞内の様々な恒常性に関わる。液胞は融合・分裂を繰り返しており、その制御に異常があると生育、胞子形成などに支障を来す。分裂酵母において、胞子成熟時の液胞の肥大化を発見し、胞子の成熟に関わることを報告した。また、液胞の融合に働く低分子量 G タンパク質である **Ypt7** とそのパラログ **Ypt71** が拮抗的に形態を制御していることを発見した。これは出芽により増殖する出芽酵母に比べて 2 分裂により増殖する分裂酵母はより厳密な液胞形態の制御が必要であることに起因すると思われる。よく似た 2 つの低分子量 G タンパク質が拮抗的に働く報告はこれが初めてである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞内の膜小胞はタンパク質や脂質などの成分をしかるべき場所に送るために巧妙に制御されている。このメカニズムの解明は細胞生物学の主要な一分野となっている。

申請者らは分裂酵母を用い、2 つの新たな膜小胞の制御機構を発見した。

1 つめは液胞融合の制御に関する知見である。**Rab** ファミリータンパク質は真核生物に普遍的に存在する低分子量 GTPase であり、分裂酵母 **Rab7** ホモログ **Ypt7** は液胞融合にはたらくことが知られている。液胞は融合や分裂を繰り返し、環境の変化に対応している。分裂酵母には **Ypt7** の他に **Ypt71** というもう一つ **Rab7** ホモログが存在するが知られている。申請者は分子遺伝学、生化学、および分子細胞生物学的解析から、**Ypt7** と **Ypt71** が液胞融合の調節に拮抗的にはたらいっていることを明らかにした。

2 つめは減数分裂時に起動する新たなエンドサイトーシスの発見である。エンドサイトーシスは細胞外の物質や細胞膜タンパク質の取り込みなどにはたらく普遍的な生命現象である。分裂酵母では減数分裂になると、将来胞子の細胞膜となる前胞子膜の形成が細胞質ではじまる。このとき、細胞膜

タンパク質である 1 型シンタキシンが細胞内に取り込まれ、前孢子膜へと劇的に局在変化を行う。申請者はこの局在変化がエンドサイトーシスでおこること。このエンドサイトーシスは栄養細胞時のものと数々の異なる性質をもつことなどを明らかにした。分裂酵母はエンドサイトーシスの性質を減数分裂時に変化させ、細胞膜のタンパク質を取り込み、前孢子膜形成を成し遂げている可能性が示唆された。

申請者の発見はいずれも分裂酵母はもちろんすべての生物を通して初めての知見であり、細胞生物学分野に重要な知見を提唱するものである。以上のことから、博士（理学）を授与するのに十分ふさわしいと判断した。